Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 2, June. July. 2021, p. 329- 338

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۰ ص.۳۳۸-۳۲۹

مقاله پژوهشی

بررسی اثر پیش‌فرآوری فراصوت و آنزیم آلفا-آمیلاز بر تولید نشاسته متخلخل از نشاسته‌های گندم و ذرت و بررسی میزان توانایی جذب یون آهن

سمیه قندهاری علویجه[۱]- مهران اعلمی[۲*]- یحیی مقصودلو[۳]- علیرضا صادقی ماهونک[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۷

چکیده

نشاسته‌های متخلخل به گروهی از نشاسته‌های فرآوری شده اطلاق می‌شوند که به‌عنوان یک جاذب پرقدرت، ترکیبات حساس به نور، حرارت و اکسیداسیون را در خود جای می‌دهند و علاوه بر نقش حامل به‌عنوان محافظ نیز محسوب می‌شوند. تولید نشاسته‌های متخلخل امروزه با به‌کارگیری فناوری‌های نوین مانند امواج فراصوت و آنزیم‌ها رو به گسترش است. در این پژوهش نشاسته گندم و ذرت با توان ۳۵۰ وات به مدت ۱۰ دقیقه طی فرایند فراصوت قرارگرفتند. مراحل افزودن آنزیم آلفا-آمیلاز (آنزیم باکتریایی از *باسیلوس سوبتیلیس*) در غلظت ۰/۱ درصد به‌صورت قبل، همزمان و پس از اعمال عملیات فراصوت صورت گرفت. به نشاسته‌های گندم و ذرت متخلخل تولید شده یون آهن (آمونیوم سولفات آهن (II)) در غلظت‌های ppm ۴۰، ۶۰ و ۸۰ افزوده شد. نشاسته‌های متخلخل پس از تولید، به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی مشاهده و توانایی آنها در جذب آب و روغن مورد بررسی قرار گرفت. سپس میزان یون آهن جذب شده و نوع پیوندهای شکل گرفته بین نشاسته‌ها و یون آهن به‌ترتیب توسط دستگاه پلاسمای جفت شده القایی (ICP) و طیف‌سنج مادون قرمز (FTIR) تعیین شدند. در کلیه مراحل نشاسته ذرت و گندم با یکدیگر مقایسه شدند. تصاویر SEM نشان دادند که نشاسته‌های گندم و ذرت که ابتدا تحت عملیات فراصوت و سپس آنزیم قرار گرفتند (گروه اول) دارای شکل منظم‌تری از تخلخل‌ها هستند. همچنین قابلیت جذب آب و روغن در نشاسته‌های گروه اول تفاوت معناداری با نشاسته‌های گروه دوم (عملیات همزمان فراصوت و آنزیم) و سوم (ابتدا عملیات آنزیم‌زنی و سپس فراصوت) ندارند. مقادیر مورد آزمون در نشاسته ذرت در کلیه مراحل بالاتر از نشاسته گندم بود. جذب یون آهن در نشاسته‌های متخلخل نسبت به نشاسته‌های معمولی افزایش یافته و با افزایش غلظت یون آهن، میزان جذب آن توسط نشاسته‌ها افزایش یافت. همچنین این نشاسته‌ها قادر به تشکیل پیوندهای آهن- اکسیژن بودند و در طول موج $575\ cm^{-1}$ پیک‌های متفاوتی با نمونه‌های شاهد مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: نشاسته متخلخل، نشاسته گندم، نشاسته ذرت، آنزیم آلفا-آمیلاز، فراصوت

مقدمه

نشاسته‌ها یکی از مهمترین و فراوان‌ترین پلی‌ساکاریدها هستند که در تأمین انرژی بشر نقش دارد. نشاسته‌های خام به دلیل ساختارهای گرانولی بسته، کاربردی در صنعت غذا نداشته و ایجاد برخی تغییرات فیزیکوشیمیایی در ساختار مولکولی نشاسته‌ها می‌تواند آنها را برای مصارف خاصی مناسب سازد. نشاسته‌های متخلخل گروهی از نشاسته‌های فرآوری شده هستند که کاربرد وسیعی در بسیاری از صنایع دارند (Cheetham and Tao, 1998). به‌طور کلی نشاسته وقتی در دمای پایین (دمای کمتر از ژلاتینه شدن) با آنزیم‌های هیدرولیزکننده خود (مانند آلفا-آمیلاز، بتا-آمیلاز، آمیلوگلوکوزیداز و سیکلودکسترین گلیکوزیل ترانسفراز) در محیطی هیدراته شود فرم متخلخل نشاسته تولید می‌گردد. در این روش گرانول‌ها سالم باقی مانده و شکل ظاهری آنها تخریب نمی‌شود اما نواحی آمورف گرانول‌های نشاسته تا حدودی هیدرولیز شده و روی سطح گرانول حفره‌ها ایجاد می‌شوند (Jung *et al*., 2017). همچنین امواج فراصوت به دلیل ایجاد پدیده کاویتاسیون، پیوندهای c-c موجود در مولکول نشاسته را تخریب نموده و منافذ و سوراخ‌هایی بر سطح گرانول ایجاد می‌کنند. کاربرد همزمان دو فرایند آنزیمی و فراصوت نقش موثری در تولید نشاسته‌های متخلخل دارد. حفره‌های ایجاد شده بر سطح گرانول دارای قطر تقریبی ۱ میکرومتر هستند که اجازه ورود مولکول‌های کوچکتر را به درون خود می‌دهند (Majzoobi *et al*., 2015). این گروه از نشاسته‌های اصلاح شده به‌عنوان ترکیباتی متخلخل دارای قابلیت جذب بالا هستند به این صورت که تخلخل‌ها

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
(*-نویسنده مسئول: Email: mehranalami@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v17i2.85314

در سطح گرانول نشاسته، باعث افزایش سطح ویژه شده و قدرت جذب نشاسته‌ها را افزایش می‌دهند. همچنین نشاسته‌ها به‌عنوان ترکیباتی با زیست تخریب‌پذیری مناسب محسوب شده بنابراین از نشاسته‌ها می‌توان به‌عنوان ترکیبات جاذب طبیعی استفاده نمود. در واقع عامل اصلی و مهم در قابلیت جذب بالا در نشاسته‌های متخلخل حضور عوامل هیدروکسیل آزاد است که به سایر مولکول‌ها اجازه ورود و ایجاد پیوند در این خلل و فرج‌ها را می‌دهد (Zhang *et al*., 2012). این حفره و یا تخلخل‌ها قادر به نگهداری ترکیبات حساس مانند روغن‌ها، مواد معدنی، ویتامین، رنگدانه‌های غذایی مانند بتا-کاروتن و لیکوپن و غیره هستند. همچنین پیشنهاد شده است که از نشاسته‌های متخلخل به‌عنوان حامل ترکیبات رنگی، مواد معطر، ادویه‌ها، شیرین‌کننده‌ها و ترکیبات دارویی نیز می‌توان استفاده نمود.

دورا و همکاران (۲۰۱۴) اثر دو آنزیم قارچی آلفا-آمیلاز و آمیلوگلوکوزیداز را بر روی نشاسته ذرت مورد بررسی قرار دادند. تصاویر مشاهده شده به‌وسیله SEM نمایان‌گر ایجاد تخلخل در گرانول‌های نشاسته بود. تغییرات متعددی در خواص حرارتی و نحوه هیدرولیز این نشاسته‌های اصلاح شده مشاهده شد. میزان جذب آب به‌طور قابل ملاحظه‌ای در نشاسته اصلاح شده با آنزیم آمیلوگلوکوزیداز افزایش یافت. به‌طور کلی این متخصصان نشان دادند که اصلاح آنزیمی در دمای کمتر از ژلاتینه شدن نشاسته به‌عنوان یک روش مطلوب برای تولید گرانول‌های نشاسته متخلخل است. همچنین لو و همکاران (۲۰۰۸) به تأثیر فرایند فراصوت بر ویژگی‌های نشاسته‌های ذرت معمولی، مومی و آمیلوز بالا پرداختند که نتایج تصاویر SEM نشان داد که گرانول‌های تولید شده دارای ساختارهای حفره‌دار هستند اما در الگوی پراش اشعه ایکس گرانول‌ها تغییری ایجاد نشد. اعمال فرایند فراصوت سبب افزایش میزان جذب آب، حلالیت در آب و دمای ژلاتینه شدن نشاسته‌ها شد. ویسکوزیته تمام نشاسته‌های فرایند شده در فراصوت کاهش یافت، اما در الگوی ویسکوزیته آنها تغییری ایجاد نشد. به‌طورکلی این محققان بیان کردند که اعمال فرایند فراصوت می‌تواند سبب تخریب بخش‌های آمورف گرانول‌ها شود اما تأثیر آن بر بخش‌های کریستالی ناچیز است. بلینگری و همکاران (۲۰۱۵) روغن آفتابگردان با اولئیک بالا را در نشاسته متخلخل انکپسوله نموده و پایداری اکسیداتیو آن را مورد بررسی قرار دادند. طی این تحقیق اسید اولئیک در صمغ و در مالتودکسترین نیز انکپسوله شد. سپس نمونه‌های انکپسوله شده و نمونه کنترل در خشک کن پاششی حرارت‌دهی شدند. عدد پراکسید و دی ان‌های مزدوج اندازه‌گیری شدند و نتایج گویای افزایش تقریبا یکسان عدد پراکسید در هر دو نمونه کنترل و انکپسوله شده بود اما دی ان‌های مزدوج در نمونه انکپسوله شده کمتر بود که بیانگر تجزیه هیدروپراکسیدها در نمونه کنترل و تولید دی ان‌های مزدوج در این نمونه بود. در نهایت محققان این طرح نتیجه گرفتند که می‌توان از نشاسته متخلخل به‌عنوان یک حامل قدرتمند در حفظ ترکیبات معطر و محلول در چربی استفاده نمایند. لو و همکاران (۲۰۱۳) طی پژوهشی از نشاسته کاساوا با فرایندهای آنزیمی، نشاسته متخلخل تولید کرده و به این نشاسته یون روی اضافه نمودند. برای این منظور مخلوطی از آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و گلوکوآمیلاز به‌صورت محلول به کار برده شدند. تصاویر مشاهده شده طی NMR نشان دادند که یون روی به‌طور عمده به اتم اکسیژن کربن شماره ۶ گلوکز متصل شده است. در پایان محققان این طرح، عنوان نمودند که نشاسته‌ها را می‌توان به عنوان حامل یون روی و سایر املاح جهت تهیه مکمل‌های غذایی به‌کار برد بدون اینکه خاصیت آلرژی‌زایی ایجاد نمایند.

با توجه به کاربرد آنزیم‌ها و توان‌های مختلف فراصوت در مطالعات قبلی، برای تولید نشاسته‌های متخلخل گندم و ذرت در این مطالعه از آنزیم آلفا-آمیلاز استفاده شد زیرا این آنزیم در ایجاد تخلخل‌ها، با شکل مناسب بر سطح گرانول‌ها، نسبت به سایر آنزیم‌ها موثرتر است (Benavent-Gil and Rosell, 2017). همچنین کاربرد فراصوت با توان ۳۵۰ وات به مدت ۱۰ دقیقه بیشترین اثر در ایجاد ترک‌ها و شکستگی‌ها بر سطح گرانول نشاسته را دارد. قابل ذکر است که تولید تخلخل‌ها باید با کمترین میزان آسیب و تخریب بر ساختارهای نیمه کریستالی و کریستالی در نشاسته باشد زیرا شکسته شدن ساختارهای اصلی نشاسته‌ها باعث ایجاد تغییرات نامطلوب می‌گردد. به‌عنوان مثال مجذوبی و همکاران (۲۰۱۵) نشاسته متخلخلی را با استفاده از فراصوت به مدت ۶۰ دقیقه با توان ۲۴۰ وات و آنزیم آلفا-آمیلاز با غلظت ۰/۶ درصد تولید کردند که در نهایت منجر به تجزیه و فروپاشی ساختارهای اصلی گرانول‌های نشاسته شد. این امر در نهایت باعث کاهش جذب روغن در این نشاسته متخلخل شد (Majzoobi *et al*., 2015). از نشاسته‌های متخلخل می‌توان به‌عنوان حامل برای حفاظت از ترکیبات حساس استفاده نمود که از جمله این ترکیبات املاح معدنی هستند. در سراسر جهان کم‌خونی فقر آهن شایعترین اختلال تغذیه ای است که دو میلیارد نفر (بیش از ۳۰ درصد از جمعیت جهان) را تحت تأثیر قرار داده است. حفاظت از یون آهن در مقابل فیتات در محصولات آردی و همچنین اکسیداسیون یون آهن در ترکیبات غذایی امری ضروری است. اکسیداسیون باعث تبدیل Fe^{+2} (فروس، قابل حل) به فرم اکسید شده Fe^{+3} (فریک، غیرقابل حل) می شود که قابلیت دسترسی به یون آهن در بدن را کاهش دهد (Infante *et al*., 2017). با توجه به اینکه فلزات سنگین از جمله یون آهن در تسریع اکسیداسیون روغن و چربی‌ها نقش موثر دارند و در مرحله تجزیه هیدروپراکسیدها عامل مهم در تخریب و تجزیه هستند، بنابراین باند شدن یون‌های آهن با نشاسته در محصولات غذایی می‌تواند نقش حفاظت از روغن و چربی‌ها را نیز داشته باشد (فاطمی، ۱۳۹۲).

مواد و روش‌ها

نشاسته گندم از شرکت مرک (Merk) و نشاسته ذرت از شرکت سیگما آلدریچ (Sigma Aldrich) خریداری شدند. یون آهن به صورت آمونیوم سولفات آهن (II) از شرکت مرک تهیه شد. آنزیم آلفا-آمیلاز (حاصل از *باسیلوس سوبتیلیس*، رنگ کرمی، فعالیت ۳۸۰ U/mg، قابل نگهداری در دمای ۸-۲ درجه سانتی‌گراد، بهینه pH برای فعالیت ۶/۹) از شرکت سیگما آلدریچ تهیه و سایر مواد شیمیایی لازم از شرکت مرک خریداری شدند.

روند کلی فرایند

نشاسته ذرت و گندم خریداری شده پس از تصویر برداری با میکروسکوپ الکترونی جهت تولید نشاسته متخلخل وارد فرایند می‌شوند. نشاسته‌ها ابتدا جهت هیدراته شدن با آب مخلوط شده (۳۰٪ وزنی- حجمی) و پس از تنظیم pH به حد خنثی، برای مدت یک شب روی دستگاه همزن مغناطیسی با مگنت (stirrer) قرار می‌گیرند. هر نوع نشاسته به ۳ گروه تقسیم می‌شود؛

۱) گروه اول، ابتدا عملیات فراصوت روی سوسپانسیون اعمال می‌شود و سپس عملیات آنزیمی صورت می‌گیرد.

۲) گروه دوم، انجام عملیات فراصوت و آنزیمی به شکل همزمان انجام می‌گیرد.

۳) گروه سوم، ابتدا سوسپانسیون تحت فرایند آنزیمی قرار گرفته و پس از طی زمان مورد نظر، وارد عملیات فراصوت می‌شود.

قابل ذکر است که دستگاه اولتراسوند (مافوق صوت)، UP400A مجهز به پروب که جنس هورن (پروب) Ti-6Al-4V و قطر آن ۱۲ میلیمتر است. توان خروجی دستگاه بین صفر تا۴۰۰ وات و فرکانس خروجی ۱±۲۰ کیلوهرتز است. این دستگاه با صفحه لمسی قابل تنظیم بود که مجهز به دماسنج (PT-100) با رنج دمای بین صفر تا ۱۰۰ قابل تنظیم بود. برای این تحقیق دمای دستگاه روی ۴۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد که در صورت افزایش دما از مقدار مذبور، به دلیل حضور سنسور حرارتی دستگاه خاموش شده که برای جلوگیری از این امر، اطراف ظرف سوسپانسیون نشاسته یخ قرار داده شد.

نحوه تولید نشاسته متخلخل

پس از هیدراته شدن نشاسته‌های گندم و ذرت، لازم است که pH آنها با محلول بیکربنات سدیم توسط دستگاه pHمتر تنظیم و به عدد ۷-۶ رسانیده شود زیرا pH اپتیمم برای فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز حدود ۶ تا ۶/۲ می‌باشد. pH سوسپانسیون نشاسته گندم و ذرت خام به‌ترتیب حدود ۵ و ۴ است. برای گروه اول، عملیات فراصوت با توان ۳۵۰ وات به مدت ۱۰ دقیقه و سپس فرایند آنزیم‌زنی (۰/۱ درصد، وزنی- حجمی) به مدت ۳۶ ساعت انجام شد. برای گروه سوم، ابتدا عملیات آنزیم‌زنی همانند شرایط قبلی و سپس عملیات فراصوت انجام گرفت. برای گروه دوم، ۳۶ ساعت زمان فرایند آنزیمی به ۳ زمان ۱۲ ساعتی تقسیم شد که در ۱۲ ساعت میانی، طی ۳ مرحله عملیات فراصوت انجام گرفت. پس از گذراندن ۴ ساعت، یعنی در زمان‌های ۱۶، ۲۰ و ۲۴ ساعت پس از آنزیم زنی، عملیات فراصوت در ۳ مرحله، به مدت زمان ۳/۳ دقیقه انجام شد. در نهایت طی ۳ مرحله عملیات شستشو و سانتریفوژ (با دور ۳۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای زیر ۲۰ درجه سانتی‌گراد) انجام گرفت (Wu *et al*., 2011). عملیات خشک کردن نشاسته‌های فرآوری شده در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت انجام شد. سپس نشاسته‌های خشک شده در شیشه‌های غیرقابل نفوذ به رطوبت در محل تاریک جهت انجام سایر عملیات قرار گرفتند.

نحوه افزودن یون آهن

نشاسته‌های متخلخل گندم و ذرت کاملا خشک، در مجاورت ۳ غلظت ۴۰ ppm، ۶۰ و ۸۰ از ترکیب آمونیوم سولفات آهن (II) قرار گرفتند و پس از تنظیم pH به مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه همزن مغناطیسی با مگنت قرار داده شدند. سپس محلول نشاسته و آهن در سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ g به مدت نیم ساعت قرار گرفته و پس از جداسازی فاز رویی، جهت حذف یون‌های آهن اضافه در نشاسته (فاز جامد زیرین) طی ۳ مرحله با آب مقطر شسته و با همین شرایط مجددا سانتریفوژ شد. در مرحله نهایی نشاسته‌ها در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت خشک شدند و در نهایت برای انجام آزمون‌ها بسته‌بندی و در مکان تاریک با دمای اتاق قرار گرفتند.

اندازه‌گیری میزان جذب آب و روغن توسط نشاسته‌ها

میزان جذب آب و روغن نمونه‌های نشاسته گندم و ذرت به صورت سه تکرار و بر اساس روش یوسیف و همکاران (۲۰۱۲) انجام شد. برای هر دو آزمایش، نشاسته‌ها در آون کاملا خشک و به وزن ثابت رسیدند. در اندازه‌گیری میزان جذب آب، ابتدا ۰/۵ گرم نمونه با ۱۰ سی‌سی آب مقطر مخلوط شده و به مدت ۲ دقیقه همزده شد سپس از سانتریفوژ با دور ۲۵۰۰ g به مدت ۳۰ دقیقه استفاده و آب شفاف روی سطح نشاسته با پیپت جدا و دور ریخته شد. در اندازه‌گیری میزان جذب روغن نیز ۰/۵ گرم نشاسته به ۵ میلی‌لیتر روغن مایع آفتابگردان اضافه شده و این مخلوط توسط همزن با ایجاد گرداب (vortex) با ۲۰۰۰ دور در دقیقه در یک ارلن مایر به مدت ۵ دقیقه در دمای محیط هم زده شد. این مخلوط به مدت ۲۰ دقیقه بدون حرکت باقی‌مانده، سپس به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ ۳۰۰۰g قرار گرفت. دو فاز حاصل بعد از سانتریفوژ از یکدیگر جدا شدند. ظرفیت جذب آب و روغن به‌عنوان درصد وزن آب و روغن باقیمانده در نشاسته‌ها بیان شده است.

آزمون ICP (Inductively Coupled Plasma)

دستگاه ICP مدل optima v300 DV که شرکت سازنده آن پرکین المر(Perkin Elmer) است. با توجه به نوع نمونه (ترکیب آلی) و دستگاه موجود، ۱ گرم از نشاسته حاوی یون آهن را با ۵۰ سی‌سی اسید کلریدریک ۱۰۰ درصد مخلوط و روی همزن مغناطیسی با مگنت به مدت ۶ ساعت قرار داده تا ترکیبات آلی نشاسته سوخته و آماده برای اندازه‌گیری میزان یون آهن شود. پس از آن، مخلوط مورد نظر را به بالن ژوژه ۱۰۰ سی‌سی منتقل نموده و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ سی سی رسانیده و ۱۰ سی سی از این مخلوط برای سنجش میزان یون آهن به اوپراتور دستگاه ICP تحویل داده شد.

FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

دستگاه FTIR مدل Tensor 27 ساخت شرکت بروکر (Bruker) است. در این دستگاه، روش عبوری نسبت به روش انعکاسی روشی کامل‌تر است و در اینجا چون هدف مشاهده پیوندهای فلزی (Fe-o) است این روش انتخاب گردید. نواحی فرکانس این دستگاه در روش عبوری (cm^{-1}) ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ است در اینجا امواج مادون قرمز از درون نمونه عبور می‌کنند. نمونه‌های نشاسته در هاون از جنس عقیق به نسبت ۱ به ۱۰۰ با برومور پتاسیم مخلوط و ساییده شدند سپس با دستگاه مخصوص پودر پرس شده و در نهایت به صورت قرص تهیه آماده شدند. قرص‌ها دارای قطر ۱ میلی‌متر و ضخامت آنها کمتر از ۱ میلی‌متر است.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

طرح آماری کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل است اندازه‌گیری‌ها برای هر مورد در ۳ تکرار انجام گردید و نتایج به‌صورت میانگین با محاسبه انحراف استاندارد (±) گزارش شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. احتمال سطح معنی‌داری در آزمون‌ها با سطح اطمینان ۹۵٪ محاسبه شد. برای تعیین نرمال بودن داده‌ها از آزمون کلموگراف- اسمیرنوف و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون‌های پارامتری t (t-test) استفاده شد. مقایسه در ۳ سطح (غلظت یون آهن) به‌صورت یکطرفه با آزمون تحلیل واریانس و مقایسه دو به دو میانگین ها با آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

توانایی جذب آب

میزان جذب آب در نشاسته‌های خام و فرایند شده گندم و ذرت در جدول ۱ مقایسه شدند. میزان جذب آب در نشاسته گندم فرآوری شده کمتر از ذرت است که این امر مربوط به ساختار گرانولی نشاسته گندم و ذرت است. نشاسته گندم از نظر شکل و اندازه دارای دو شکل متفاوت است که شامل گرانول‌های بزرگ از نوع A، که شکل آنها شبیه دیسک یا عدسی است در حالی که گرانول‌های کوچک از نوع B، عمدتا کروی یا بیضوی هستند. گرانول‌های نشاسته ذرت چند ضلعی و گرد هستند و از نظر شکل و اندازه مشابه هستند (اعلمی، ۱۳۹۴). با اعمال فرایند فراصوت در ابتدا و سپس کاربرد آنزیم آلفا- آمیلاز (گروه ۱) برای نشاسته گندم و ذرت، مقادیر جذب آب، نسبت به نشاسته خام افزایش معناداری داشت (P<۰/۰۵) اما تفاوت معناداری از لحاظ آماری بین ۳ گروه مشاهده نشد (P>۰/۰۵). علت این وقایع به دلیل اثر آنزیم روی قسمت آمورف نشاسته‌ها است که باعث افزایش ظرفیت جذب آب شده و نسبت سطح به حجم گرانول‌ها افزایش پیدا کرده است. عملیات فراصوت همچنین با ایجاد پدیده کاویتاسیون باعث ایجاد تغییراتی در پیوندهای کووالانسی موجود در نشاسته شده که عامل اصلی در افزایش میزان جذب آب است. به طور کلی می‌توان گفت که کاربرد عملیات فراصوت و آنزیم باعث تخریب بیشتر بخش آمورف (آمیلوز) نسبت به بخش کریستالی (آمیلوپکتین و آمیلوز) شده است (Benavent-Gil and Rosell , 2017).

جدول ۱- جذب آب روغن در نشاسته های ذرت و گندم خام و متخلخل

نشاسته ذرت	میزان جذب آب (٪)	میزان جذب روغن (٪)	نشاسته گندم	میزان جذب آب (٪)	میزان جذب روغن (٪)
نمونه خام	۱/۸۷ ± ۰/۰۲	۱/۰۹ ± ۰/۱۴	نمونه خام	۱/۳۹ ± ۰/۰۹	۰/۸۸ ± ۰/۱۹
گروه اول	۶۱/۶۶ ± ۰/۱۲	۳۱/۷۳ ± ۰/۱۶	گروه اول	۳۰/۰۶ ± ۰/۰۸	۲۱/۴۲ ± ۰/۱۳
گروه دوم	۶۱/۲۲ ± ۰/۲۰	۳۱/۳۲ ± ۰/۰۸	گروه دوم	۳۰/۲۹ ± ۰/۰۴	۲۱/۹۵ ± ۰/۱۷
گروه سوم	۵۸/۹۴ ± ۰/۰۷	۳۲/۴۸ ±۰/۰۳	گروه سوم	۳۰/۰۷ ± ۰/۰۶	۲۰/۶۴ ± ۰/۱۰

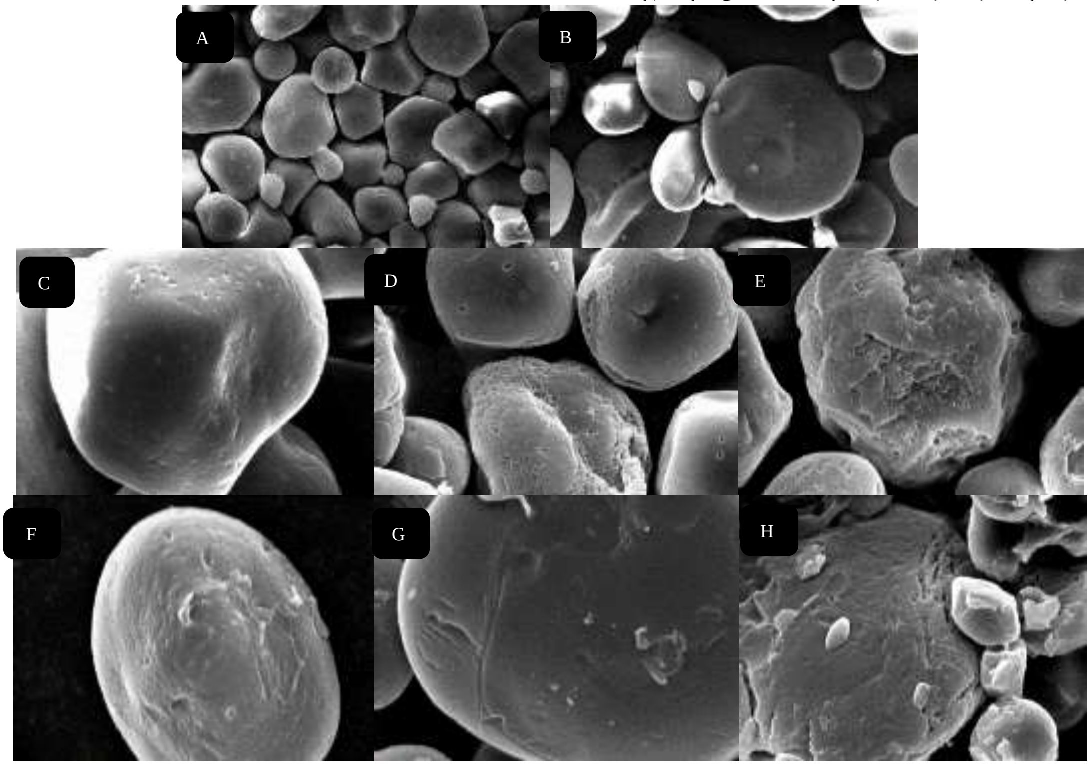
توانایی جذب روغن

جذب روغن نیز در نشاسته‌های خام و فرآوری شده گندم به‌طور معناداری (P<۰/۰۵) کمتر از نشاسته خام و فرآوری شده ذرت است (جدول ۱). به‌طور کلی در نشاسته‌های گندم و ذرت در ۳ گروه موجود، تفاوت معناداری در میزان جذب روغن وجود ندارد (P>۰/۰۵). بناونت گیل و همکاران (۲۰۱۷) به‌طور کلی بیان نمودند که نشاسته‌های

متخلخل که به‌وسیله فرایندهای آنزیمی حاصل شدند دارای منافذ زیادی در سطح خود هستند و به همین دلیل بر اساس تعداد و اندازه حفره‌ها، خواص مورفولوژیکی و فیزیکوشیمیایی نشاسته‌ها دست خوش تغییرات عمده‌ای می‌شود و توانایی این نشاسته‌ها در جذب روغن و سایر موارد افزایش می‌یابد.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی

نشاسته‌های خام ذرت و گندم توسط دستگاه SEM مشاهده شدند (شکل ۱). در ذرت گرانول‌های هم اندازه و گوشه دار (شکل A) و در گندم گرانول‌های نشاسته با سایزهای بزرگ و کوچک و با شکل گرد (شکل B) مشاهده شدند. همانطور که در شکل مشخص است سطح گرانول نشاسته گندم و ذرت خام، صاف و بدون هیچ شواهدی از شکاف و حفره است. هنگامی که نشاسته ذرت درگروه اول، ابتدا تحت عملیات فراصوت قرار گرفت ترک و شکاف‌هایی روی پوسته سطحی گرانول ایجاد شدند که نهایتا به نفوذ و عملکرد بهتر آنزیم کمک نموده و حفره و تخلخل‌ها با شکل مناسبی ایجاد شدند (شکل C). در حالی که استفاده همزمان آنزیم و فراصوت باعث ایجاد گرانول‌هایی با منافذ کمتر و پراکندگی حفره‌ها شد و این حفره‌ها به سختی قابل رویت بودند (شکل D). در این گروه، ساختار سطحی گرانول‌ها بیشتر به شکل ورقه ورقه دیده شد زیرا امواج فراصوت نسبت به آنزیم در تخریب سطح و ایجاد شکاف و ترک‌ها بسیار موثرتر است. همچنین فراصوت می‌تواند آنزیم‌ها را به‌واسطه پدیده کاویتاسیون غیرفعال نماید. در نتیجه در این گروه، بافت متخلخل به‌صورت جزئی ایجاد شد. براساس مشاهدات در گرانول‌های ذرت در گروه سوم، سطح گرانول بیشتر دچار آسیب سطحی شده و بافت متخلخل به ندرت مشاهده شد (شکل E)..



شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی با بزرگنمایی ۲ میکرومتر، شکل A برای نشاسته ذرت خام و گروه اول، دوم و سوم نشاسته متخلخل به ترتیب C، D و E؛ شکل B برای نشاسته گندم خام و گروه اول، دوم و سوم نشاسته متخلخل گندم به ترتیب F، G و H.

تغییرات در این گروه تقریبا مشابه گروه دوم به نظر رسیدند. براین اساس می‌توان نتیجه گرفت که عملیات فراصوت بیشتر اثر تخریبی بر روی سطح گرانول‌ها دارد و آنزیم آلفا-آمیلاز در ایجاد حفره‌ها و نفوذ به درون ساختار گرانول مؤثر است. در نتیجه می‌توان بیان نمود که عملیات فراصوت، در گروه ۱ می‌تواند اثر آنزیم را، به دلیل ایجاد تخریب در سطح گرانول‌ها، افزایش دهد و تخلخل‌هایی با شکل و تعداد مناسب‌تر ایجاد نماید. به‌طور کلی می‌توان گفت که انفجار ناگهانی در پدیده کاویتاسیون با ایجاد فشار و سرعت بسیار بالا در لایه‌های مایع و در پی آن با ایجاد نیروهای برشی، باعث ایجاد شکستگی در زنجیره‌های پلیمری نشاسته شده است. این وقایع در نهایت نفوذ آنزیم آلفا-آمیلاز را به داخل گرانول تسهیل نمود. بر اساس تصاویر، بافت متخلخل و حفره روی سطح گرانول نشاسته‌های

دانه گندم به سختی مشاهده شد. در نمونه‌های گروه ۱ (شکل F) نسبت به نمونه‌های دو گروه دیگر (شکل G, H) حفره‌های بیشتری مشاهده شدند. با مقایسه نشاسته ذرت و گندم می‌توان نتیجه‌گیری نمود که نشاسته ذرت برای تولید نشاسته متخلخل و انکپسوله کردن ترکیبات مغذی بسیار مناسب‌تر از نشاسته گندم است. این امر بدلیل ساختار متفاوت مولکولی نشاسته گندم و ذرت می‌باشد. این نظریه وجود دارد که برای ایجاد بافت متخلخل در گرانول‌های گندم نیاز به صرف انرژی، آنزیم (مقدار و نوع) و زمان بیشتری است.

تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشاسته ذرت طی پژوهشی که توسط دورا و راسل (۲۰۱۶) انجام شد نمایان‌گر سطحی صاف، صیقلی و بدون حضور حفره یا تخلخل برای نشاسته خام بود. بر اثر عملکرد آنزیم سیکلودکسترین ترانسفراز (CGTase) و فرایند حرارت‌دهی در دمای کمتر از ژلاتینه شدن نشاسته (۵۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت، سطح گرانول‌های نشاسته ذرت تغییر یافته و دچار شکستگی و تخریب شدند همچنین حفره‌ها و تخلخل‌های ریز به صورت پراکنده نیز بر اثر عملکرد آنزیم مشاهده شدند. با توجه به اینکه گرانول‌های نشاسته دارای ساختارهای کریستالی، نیمه کریستالی و آمورف هستند و بخش‌های کریستالی عمدتا از آمیلوپکتین و بخش‌های آمورف از آمیلوز تشکیل شده اند؛ با استفاده از فرایند آنزیمی (CGTase) تغییرات ایجاد شده بیشتر در مناطق غیرکریستالی (آمورف) سطح گرانول‌ها بوده است. به طور کلی آنزیم‌های هیدرولیزکننده نشاسته با نفوذ به ساختارهای داخلی گرانول‌ها باعث ایجاد بافت متخلخل و حفره‌ها شده که در این حفره‌ها عوامل هیدروکسیل آزاد فراوانی وجود دارد که آمادگی زیادی برای برقراری پیوند دارند.

پلاسمای جفت شده القایی (ICP)

میزان یون آهن جذب شده توسط نشاسته‌های خام و فرآوری شده ذرت و گندم با دستگاه ICP اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج (جدول ۲) نشاسته ذرت فرآوری شده به‌طور معناداری (P<۰/۰۵) توانایی جذب یون آهن بیشتری نسبت به نشاسته گندم فرآوری شده دارد. همچنین نشاسته ذرت در میزان جذب آهن در گروه اول با گروه دوم و سوم دارای تفاوت معنادار (P<۰/۰۵) است اما داده‌های گروه دوم و سوم تفاوت معناداری (P> ۰/۰۵) نداشتند. با توجه به این نتایج می‌توان عنوان نمود که انجام عملیات فراصوت در ابتدا در ایجاد شکاف و حفره‌ها بر سطح گرانول و در پی آن افزایش اثر آنزیم و میزان جذب یون آهن، بسیار موثرتر از انجام عملیات فراصوت حین عملکرد آنزیم و یا پس از آن است. این احتمال وجود دارد که تشکیل حفره‌های بیشتر با شکل متناسب‌تر در نشاسته ذرت در گروه اول، عامل جذب بیشتر یون آهن است.

جدول ۲- میزان یون آهن جذب شده توسط نشاسته‌های خام و متخلخل

نشاسته ذرت	غلظت آهن	مقادیر آهن (ppm)	نشاسته گندم	مقادیر آهن (ppm)
نمونه خام	۰	۸۸/۲۱	نمونه خام	۵۶/۶۳
نمونه خام آهن‌دار	۴۰	۱۲۰/۸۹^{A}	نمونه خام آهن‌دار	۹۲/۴۷^{A}
	۶۰	۱۴۰/۳۹^{A}		۱۰۱/۶۸^{A}
	۸۰	۱۵۹/۵۰^{A}		۱۲۹/۵۰^{A}
گروه اول	۴۰	۲۱۹/۰۰^{a}	گروه اول	۱۵۷/۲۲^{c}
	۶۰	۲۳۹/۰۱^{a}		۱۷۵/۴۴^{c}
	۸۰	۲۵۹/۷۰^{a}		۱۹۰/۶۹^{c}
گروه دوم	۴۰	۱۴۳/۰۶^{b}	گروه دوم	۸۲/۸۷^{d}
	۶۰	۱۶۰/۴۹^{b}		۹۶/۶۳^{d}
	۸۰	۱۶۶/۴۳^{b}		۱۰۵/۷۴^{d}
گروه سوم	۴۰	۱۳۵/۹۴^{b}	گروه سوم	۸۰/۴۹^{d}
	۶۰	۱۴۷/۹۲^{b}		۹۹/۰۰^{d}
	۸۰	۱۶۷/۶۲^{b}		۱۱۵/۸۴^{d}

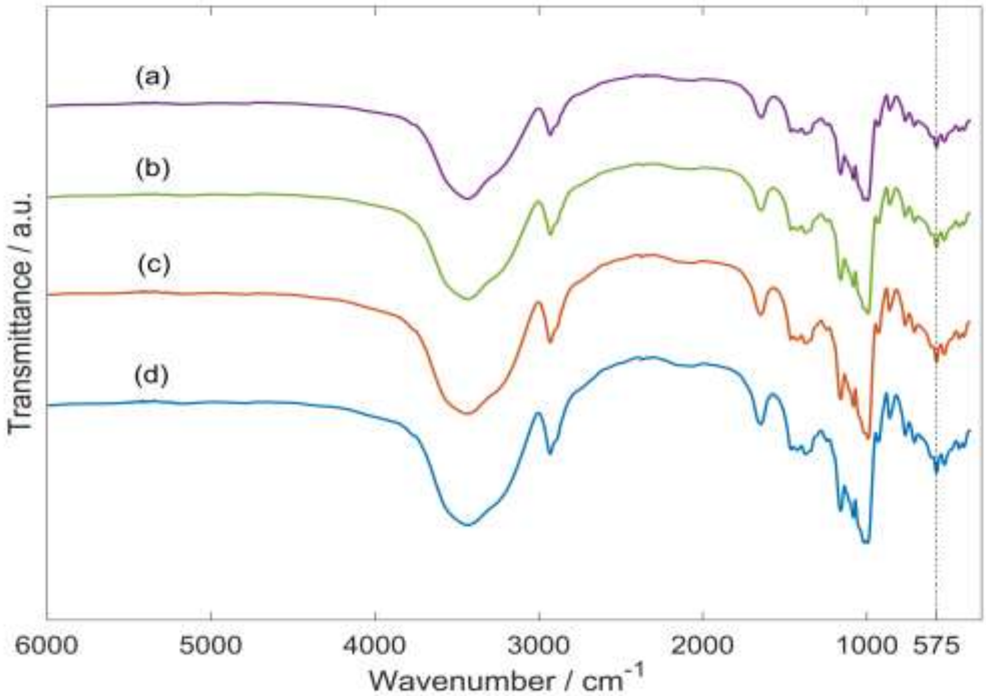
حروف بزرگ اختلاف معنادار در نشاسته‌های خام گندم و ذرت است و حروف کوچک اختلاف معنادار بین ۳ گروه را بیان می‌کنند

با توجه به نتیجه عملکرد عملیات فراصوت و آنزیم، عوامل هیدروکسیل آزاد زیادی از مولکول‌های گلوکز (واحدهای سازنده نشاسته) در تخلخل‌ها آماده برای ایجاد پیوندهای یونی هستند. با مقایسه نمونه‌های خام گندم و ذرت مشخص شد که بین نشاسته ذرت و گندم خام تفاوت معناداری (P>۰/۰۵) در جذب یون آهن وجود ندارد. در نشاسته گندم نیز میزان جذب یون آهن در گروه اول با گروه

دوم و سوم دارای تفاوت معنادار (P<۰/۰۵) است. در کلیه نمونه‌ها با افزایش غلظت آهن، میزان جذب توسط نشاسته‌ها افزایش یافته است. با توجه به ارقام در جدول، میزان یون آهن طبیعی موجود در نشاسته خام ذرت و گندم به‌ترتیب ۸۸/۲۱ و ۵۶/۶۳ پی‌پی‌ام است که با قرار دادن این نشاسته‌ها در مجاورت آمونیوم سولفات آهن (II)، این مقادیر به حداکثر میزان خود در غلظت ۸۰ پی‌پی‌ام رسیدند. به‌عبارتی دیگر می‌توان بیان نمود که حداکثر میزان قابلیت جذب یون آهن در غلظت ۸۰ پی‌پی‌ام توسط نشاسته خام ذرت و گندم به‌ترتیب ۷۱/۲۹ و ۷۲/۸۷ پی‌پی‌ام است که این ارقام حاصل اختلاف دو عدد ۸۸/۲۱ و ۱۵۹/۵۰ برای ذرت و دو عدد ۵۶/۶۳ و ۱۲۹/۵۰ برای گندم به‌دست آمد. در حالی که برای نشاسته‌های فرآوری شده در گروه اول و در غلظت ۸۰ پی‌پی‌ام، این اختلاف افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است. طبق محاسبات انجام شده، اختلاف بین میزان یون آهن طبیعی موجود در نشاسته خام ذرت (۸۸/۲۱) با نشاسته متخلخل آهن دار شده با غلظت ۸۰ پی‌پی‌ام (۲۵۹/۷۰) عدد ۱۷۱/۴۹ حاصل شده که این عدد برای نشاسته گندم ۱۳۴/۰۶ به‌دست آمد. واضح است که نشاسته ذرت و گندم متخلخل در گروه اول و با غلظت ۸۰ پی‌پی‌ام به‌ترتیب ۱۰۰/۲ و ۶۱/۱۹ پی‌پی‌ام بیشتر از فرم خام خود توانایی در جذب یون آهن داشتند. این مشاهدات بیان کننده نتایج مطلوب برای انکپسوله کردن یون آهن توسط نشاسته‌های متخلخل را دارد زیرا حضور حفره‌ها توانایی جذب نشاسته‌ها به‌خصوص نشاسته ذرت را افزایش داده است.

طیف سنج مادون قرمز (FTIR)

طیف FTIR نشاسته خام گندم و ذرت (a و b) و فرم متخلخل آهن‌دار شده آنها (c و d) در شکل ۲ مشخص شده است. موقعیت قله پیک‌ها هیچ گونه تغییر مشخصی نکرده است بدیهی است که پس از اعمال عملیات فراصوت و فرایند آنزیمی نشاسته دست‌خوش تغییرات مولکولی نشده و ساختار مولکولی نشاسته همچنان ثابت باقی مانده است. با این وجود، شدت پیک‌ها پس از فرایندها کاهش یافته به این دلیل که ایجاد منافذ منجر به کاهش تراکم و دانسیته گرانول‌های نشاسته شده است (Zhang *et al.*, 2012).



شکل ۲- طیف FTIR نشاسته گندم خام (a)، نشاسته ذرت خام (b)، نشاسته متخلخل گندم با ۸۰ پی‌پی‌ام آهن (c) و نشاسته متخلخل ذرت با ۸۰ پی‌پی‌ام آهن (d).

کلیه پیک‌ها در عدد موجی‌های بین cm^{-1} ۳۳۰۰ تا ۳۵۰۰، از جمله باندهای پهن موجود در عدد موجی cm^{-1} ۳۴۴۰ با انجام فرایندها باریک‌تر شدند که نشان‌دهنده قطع برخی از پیوندهای هیدروژنی (منظور stretching vibration که نشانه لرزش کششی در باندهای O-H است) طی عملیات فرآوری نشاسته متخلخل است. عدد موجی cm^{-1} ۱۰۲۲ نشان‌دهنده بخش‌های آمورف و عدد موجی cm^{-1} ۱۰۲۲ تا ۱۰۴۸ بخش‌های کریستالی در گرانول‌های نشاسته است که به‌دلیل تغییرات ایجاد شده در قسمت‌های آمورف، پیک‌های

این نواحی نیز دچار تغییر شده و برعکس در قسمت کریستالی شکل پیک‌ها ثابت هستند (Zhu *et al*., 2018). همچنین در نشاسته گندم و ذرت به‌ترتیب، پیک‌هایی در عدد موجی ۹۹۴ cm^{-1} و ۹۹۳ وجود داشتند که در نمونه خام آنها در ۹۹۳ cm^{-1} و ۹۹۲ مشاهده شدند. علت افزایش این مقادیر می‌تواند ناشی از واکنش بین هیدروکسیل‌ها و اتم‌های یون آهن باشد. شدت و تغییر شکل ناچیز در پیک‌ها، تا حدودی ممکن است به‌دلیل تغییر در بلورینگی نشاسته‌ها مربوط باشد (Staroszczyk and Janas, 2010). قابل ذکر است که گروه‌های هیدروکسیل از واحدهای D-گلوکز در نشاسته به صورت پی در پی وارد واکنش با یون‌های آهن شدند که بر اساس تحقیقات انجام شده توسط سانتوس و همکاران (۲۰۱۶) پیوند Fe-O در عدد موجی ۵۷۵ cm^{-1} پیک می‌دهد. در جدول ۴ نیز اعداد جذب در عدد موجی ۵۷۵ cm^{-1} نمایش داده شده است.

جدول ۳- اعداد جذب طیف سنجی FTIR در طول موج ۵۷۵ cm^{-1}

جذب (طول موج ۵۷۵ cm^{-1})	نشاسته گندم	جذب (طول موج ۵۷۵ cm^{-1})	غلظت آهن	نشاسته ذرت
۰/۶۷۸	نمونه خام	۰/۵۹۹	۰	**نمونه خام**
۰/۴۶۴	نمونه خام آهن‌دار	۰/۶۵۰	۴۰	**نمونه خام آهن‌دار**
۰/۵۵۴		۰/۵۹۰	۶۰	
۰/۵۳۶		۰/۵۶۵	۸۰	
۰/۴۷۵	گروه اول	۰/۵۹۱	۴۰	**گروه اول**
۰/۵۴۹		۰/۵۸۱	۶۰	
۰/۴۴۷		۰/۵۷۱	۸۰	
۰/۳۲۰	گروه دوم	۰/۵۸۷	۴۰	**گروه دوم**
۰/۵۹۲		۰/۵۷۲	۶۰	
۰/۵۸۱		۰/۶۲۱	۸۰	
۰/۵۳۲	گروه سوم	۰/۶۵۵	۴۰	**گروه سوم**
۰/۶۹۸		۰/۵۷۸	۶۰	
۰/۵۵۷		۰/۶۱۹	۸۰	

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از میزان توانایی جذب آب و روغن آفتابگردان توسط نشاسته‌های متخلخل گندم و ذرت می‌توان بیان نمود که نشاسته ذرت قابلیت جذب بیشتری نسبت به نشاسته گندم دارد. همچنین مطابق با تصاویر حاصل شده از SEM حضور تخلخل‌ها و حفرات در نشاسته ذرت با وضوح مناسب‌تر مشاهده شدند در حالی که گرانول‌های فرآوری شده گندم بیشتر ورقه ورقه شده بودند و حفره‌ها به ندرت مشاهده شدند. در نشاسته گندم سطح گرانول‌ها دچار تخریب و آسیب‌دیدگی شد که می‌توان نتیجه گرفت که برای ایجاد حفره در این نشاسته باید هزینه و زمان بیشتری نسبت به نشاسته ذرت صرف نمود. انجام عملیات فراصوت قبل از استفاده از آنزیم، به‌طور قطع اثر آنزیم را در نفوذ بیشتر به بافت نشاسته‌ها افزایش داد و توانایی جذب یون آهن را در ساختارهای درونی نشاسته بالا برد. از معیارهای مهم در انتخاب منابع آهن در مواد غذایی جهت جبران کمبود این عنصر ارزشمند می‌توان به این موارد اشاره نمود؛ قابلیت زیست‌دسترسی، اثرات چشایی، رنگ و هزینه است که تاکنون کاربرد هیچ یک از روش‌های پیشین پاسخگوی رفع کمبود این عنصر نشده است. بنابراین محافظت از یون آهن در ساختارهای متخلخل نشاسته ذرت به‌عنوان منبعی فراوان و ارزان توصیه می‌شود.

منابع

اعلمی، م. ۱۳۹۴، مبانی دانش و فرآوری غلات، نشریه جهاد دانشگاهی مشهد، شماره ۵۲۴، صفحات ۳۳-۲۱.

فاطمی، ح. ۱۳۹۲، شیمی مواد غذایی، شرکت سهامی انتشار تهران، ۴۸۰، صفحات ۱۸۰-۱۷۹.

Belingheri, C., Giussani, B., Rodriguez-Estrada, M T., Ferrillo, A., & Vittadini, E. (2015). Oxidative stability of high-oleic sunflower oil in a porous starch carrier. *Food Chemistry*. 166, 346-351.

Benavent-Gil, y., & M. Rosell, C. (2017). Morphological and physicochemical characterization of porous starches obtained from different botanical sources and amylolytic enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules.* 103, 587–595.

Benavent-Gil, y., & M. Rosell, C. (2017). Performance of granular starch with controlled pore size during hydrolysis with digestive enzymes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 72:353-359.

Cheetham, N. W.H., & Tao, T. (1998). Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. *Carbohydrate Polymers*, 36, 277–284.

Dura, A., Blaszczak, W., & M. Rosell, C. (2014). Functionality of porous starch obtained by amylase or amyloglucosidase traetments. *Carbohydrate Polymers*. 101, 837-845.

Dura, A and M. Rosell C. (2016). Physico-chemical properties of corn starch modified with cyclodextrin glycosyltransferase. *International Journal of Biological Macromolecules.* 87, 466–472.

Infante, R. A., Natal, D. I. G., Moreira, M. E. C., Bastiani, M.I. D., Oliveira Chagas, C. G., Regini Nutti, M., Queiroz, V. A. V., & Duarte Martino, H. S. (2017). Enriched sorghum cookies with biofortified sweet potato carotenoids have good acceptance and high iron bioavailability. *Journal of Functional Foods*. 38, 89-99.

Jung, Y., Lee, B., Yoo, S. (2017). Physical structure and absorption properties of tailor-made porous starch granules produced by selected amylolytic enzymes. *Journal pone*. 1-14.

Luo, Z., Cheng, W., Chen, H., Fu, X., Peng, X., Luo, F,. & Nie, L. (2013). Preparation and properties of enzymes-modified Cassava starch-zink complexes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 61, 4631-4638.

Luo, Z., Fu, X., He, X., Luo, F., Gao, Q., & Yu, S. (2008). Effect of ultrasonic treatment on the physicochemical properties of maize starches differing in amylose content. *Starch‐Stärke*, *60*(11), 646-653.

Majzoobi, M., Hedayati, S., & Farahnaky, A. (2015). Functional properties of microporous wheat starch produced by α-amylase and sonication. *Food Bioscience*. 11, 79–84.

Santos, A. F. M., Macedo, L. J. A., Chaves, M. H., Espinoza-Castañeda, M., Merkoçi, A., A. Limac, F., & Cantanhêde, W. (2016). Hybrid Self-Assembled Materials Constituted by Ferromagnetic Nanoparticles and Tannic Acid: a Theoretical and Experimental Investigation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 4, 727-734.

Staroszczyk, H., Janas, p. (2010). Microwave-assisted synthesis of zinc derivatives of potato starch. *Carbohydrate Polymers*. 80, 962–969.

Wu, y., Du, X,. Ge, H., & Lv, Z. (2011). Preparation of microporous starch by glucoamylase and ultrasound. *Starch journal*. 63, 217-225.

Yousif, E. I., Gadallah, M. G. E., & Sorour, A. M. (2012). Physico-chemical and rheological properties of modified corn starches and its effect on noodle quality. *Annals of Agricultural Sciences*, 57(1), 19–27.

Zhang, B., Cui, D., Liua, M., Gong, H., Huang,Y., & Han, F. (2012). Corn porous starch: Preparation, characterization and adsorption property. *International Journal of Biological Macromolecules*. 50, 250– 256.

Zhu, J., Sun, W., Meng, Z., Zhu, X., Gun, H., Gu, R., Wu, Z., &Dou, G. (2018). Preparation and characterization of a new type of porous starch microspheres (PSM) and effect of physicochemical properties on water uptake rate. *Biological macromolecules*. 116, 707-714.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 2, June. July. 2021, p. 329- 338

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۰ ص.۳۳۸-۳۲۹

Effect of ultrasound and enzyme treatment on wheat and corn starches for making porous starches and iron ion absorption capacity

S. Ghandehari, M. Alami*, Y. Maghsoudlou, A. R. Sadeghi

Received: 2020.01.28
Accepted: 2020.05.16

Introduction: Porous starch granules are becoming of great interest such as non-toxic absorbents, owing to their great absorption capacity derived from the major specific surface area. Pores can protect sensitive elements as oils, minerals, vitamins, bioactive lipids, food pigments such as beta-carotene and lycopene that are sensitive to light, oxidation or high temperature. Alpha-amylases from Bacillus and glucoamylases from *Aspergillus niger* have the strongest hydrolytic ability toward starch. Ultrasonic treatments have been reported to produce modified starch. In the last years, the effects of sonication on the starch microstructures and properties have been studied. It was shown that the C–C bonds of starch granules were destroyed, and hollows or pores were formed on the surface and inside the granules. Therefore, the main objective of this study was to identify a suitable starch (corn or wheat) to carry and protect iron ions. The enzyme having a fixed concentration of 0.1% within a fixed period of 36 hour, was added to the starch solutions in three different steps - after, simultaneously and before - the ultrasound processes. The power of the ultrasound was 350 watt for 10 minutes. Iron ions (Iron Ammonium Sulfate (II)) were added to the porous corn and wheat starches in concentrations of 40, 60 and 80 ppm.

Materials and methods: The ability of water and oil adsorptions were measured in the produced corn and wheat porous starches. The microstructures of porous starches were revealed by using Scanning Electron microscopy (SEM)**.** After adding iron ammonium sulfate (II) to the porous starches of corn and wheat, the amount of iron ions absorbed and the type of bonds formed between starch and iron ions were determined by inductively coupled plasma (ICP) and infrared spectroscopy (FTIR), respectively. Statistical analysis was performed by using SPSS software and the mean comparison test at 5% probability level and in the form of factorial test.

Results & Discussion: The hydration capacity in processed wheat starch was lower than corn starch due to the differences in granular structure of wheat and corn starch. The hydration capacity in native wheat and corn starches was significantly ($P< 0.05$) lower than the processed forms. No significant difference ($P>0.05$) was observed between the three steps of adding enzyme (e after, simultaneously and before the ultrasound processes). According to the results, the oil adsorption capacity in the processed starches was more than that of the native forms. Scanning Electron Microscopy (SEM) shows that the native corn and wheat starch granules appeared without any clear of fissures, fractures and pores. The corn and wheat starches which were treated by the enzyme after (step 1), simultaneously (step 2) and before (step 3) the ultrasound change and lose their smooth surfaces and become uneven. The surface of corn granules in group 2 and 3 have less pores and porosities with more laminated. In simultaneously processes (phase 2) the ultrasound causes the enzyme to be inactivated. In phase 1, it can be concluded that the ultrasound helps the enzyme performance in creating the porosities and cavities. The wheat granules in step 1, 2 and 3 have a lot of damage on the surface and it is likely that the surface of the wheat granule is more resistant to enzyme penetration than the corn. The results of the ICP test show that processed corn starch has significantly ($P <0.05$) greater ability to absorb iron ions than processed wheat starch. Also, corn starch had a significant difference in iron uptake in the step 1 than steps 2 and 3 ($P <0.05$), but the data of the second and third steps did not differ significantly ($P> 0.05$). Hydroxyl groups of D-glucose units in starch granules bond with iron ions and FTIR spectrums give drop at 575 (cm^{-1}) wavelengths.

This study showed that enzymatic treatment and ultrasound led to the native corn starches convert to porous starches. The corn starch is more suitable than the wheat because the wheat is more resistant and the cavities were rarely formed. The corn porous starch is a suitable carrier for iron ions.

Keywords: Porous starch, α-amylase enzyme, Ultrasound, Corn, Wheat, Iron, Fortification

(*Corresponding Author Email: mehranalami@yahoo.com)